

ENZIMI DI INDUZIONE NEL MONITORAGGIO DEGLI ANTIEPILETTICI

T. Iacobellis*, P. M. Accettura*

***Medicina di Laboratorio – Presidio Castel di Sangro (AQ)**-AUSL Avezzano-Sulmona-
Regione Abruzzo

Scopo del lavoro

Scopo del lavoro è stato dimostrare la correlazione e la necessità del dosaggio di un *enzima induttore*, la GGT, e la somministrazione di farmaci antiepilettici (fenobarbitale e fenitoina) se si vuole definire una dose individuale ottimale di farmaco ed il mantenimento del range terapeutico nell'arco delle 24 ore con assenza di crisi epilettiche e/o effetti di sovradosaggio.

Materiali e Metodi

Sono stati studiati 200 soggetti di sesso maschile con età compresa tra 18 e 27 anni. I criteri di ammissione allo studio sono stati : 1) *assenza di patologie al di fuori delle crisi epilettiche*, 2) *assunzione del farmaco da almeno 6 mesi*. Il campione è stato diviso in due sottogruppi da 100 unità ciascuno : *terapia con fenobarbitale, terapia con fenitoina*. Si è standardizzata la dose (*200-500 mg/die per la fenitoina e 60-300 mg/die per il fenobarbitale*) ed il tempo di somministrazione (*h 8.00-16.00-24.00 per la fenitoina, h 8.00 per il fenobarbitale*).

Le metodiche utilizzate sono state *l'HPLC e cinetica-enzimatica*, rispettivamente con la strumentazione *Varian 5000,detector 2050,integratore 4270* per il dosaggio dei farmaci ed il modello Dimension Ar della *Dade* per il dosaggio della GGT (v.r. 15-85U/L).

Risultati

Fenitoina					
Valore GGT	Dose farmaco	Ore 12.00	Ore 20.00	Ore 8.00	N° soggetti
40 – 60 U/L	200 – 500 mg/L	34 mcg/L	31 mcg/L	16 mcg/L	10
85 – 90 U/L	200 – 500 mg/L	17 mcg/L	16 mcg/L	13 mcg/L	30
> 95 U/L	200 – 500 mg/L	17 mcg/L	16 mcg/L	5 mcg/L	60

Fenobarbitale					
Valore GGT	Dose farmaco	Ore 12.00	Ore 20.00	Ore 8.00	N° soggetti
< 90 U/L	60 – 300 mg/L	30 mcg/L	25 mcg/L	20 mcg/L	80
> 95 U/L	60 – 300 mg/L	30 mcg/L	20 mcg/L	13 mg/L	20

Conclusioni

I soggetti con la stessa dose terapeutica di fenitoina e fenobarbitale hanno dimostrato ad una diversa concentrazione serica di GGT una diversa sintomatologia :

- 1) quelli con aumento del valore di GGT del 12 % del valore massimo di riferimento : *assenza di sintomatologia*,
- 2) quelli con aumento del valore di GGT superiore al 12 % del valore massimo di riferimento : *crisi epilettiche* un'ora prima del risveglio e della dose di farmaco delle ore 8.00 (epilessia del risveglio),
- 3) per la sola fenitoina i soggetti con valori di GGT inferiori a 60 U/L accusavano tutti *i segni di sovradosaggio* (ipertrofia gengivale nonostante la regolare assunzione di vit.C).

Questa correlazione dimostra la *necessità di dosare* in concomitanza dell'antiepilettico l'enzima di induzione GGT se si vogliono instaurare delle dosi personalizzate e fenomeni non desiderati.

Bibliografia : Courville ,Pathology of the nervous system ; Putnam-Merrit,Anticonvulsant

Monitoraggio dell'abuso alcolico: confronto fra Transferrina Carboidrato Carente, Gamma-glutamyltransferasi e Volume Corpuscolare Medio.

G. Albalustri^a, G. Annovazzi^a, G. Devoto^a, M. Arcellaschi^b, B. Bucci^b

^a Laboratorio Analisi Ospedale Lavagna, *N.O.A. Ser. T.*^b, ASL 4 Chiavarese (GE).

Scopo del Lavoro

Scopo del nostro lavoro è stata la valutazione dell'efficacia nel monitoraggio dell'abuso alcolico dei seguenti parametri: Transferrina Carboidrato carente (CDT), Gamma-glutamyltransferasi (GGT) e Volume Corpuscolare Medio (MCV).

Materiali e Metodi

Sono stati arruolati nello studio 79 Pazienti non selezionati afferenti all'Ambulatorio per il monitoraggio dell'abuso alcolico, per un totale di 112 controlli oggetto dello studio. I Pazienti sono stati suddivisi in due gruppi in base alla presenza e/o assenza di abuso alcolico nel periodo antecedente la visita di controllo. Contestualmente al controllo clinico veniva eseguito un prelievo ematico per la determinazione dei seguenti parametri: CDT, GGT e MCV. Per la determinazione della GGT è stata utilizzata una procedura automatizzata su analizzatore Hitachi 917 (Roche); l'MCV è stato determinato su contaglobuli ADVIA 120 (BAYER); per la CDT è stato utilizzato il metodo Axis-Shield %CDT, parzialmente automatizzato su analizzatore AU400 (Olympus).

Risultati

Ai controlli ambulatoriali sono state registrate 48 condizioni di abuso alcolico e 64 di compliance al trattamento. In Tabella 1 sono riportati i risultati dello studio; per ciascun parametro considerato sono state calcolate la sensibilità, la specificità ed il grado di concordanza in valore assoluto e in percentuale, con i dati clinici che sono stati considerati il gold standard.

	CDT	GGT	MCV
CONCORDANTI	104 (92.8%)	72 (64%)	76 (68%)
DISCORDANTI	8 (7,2%)	40 (36%)	36 (32%)
SENSIBILITA'	92%	89%	64%
SPECIFICITA'	94%	65%	86%

Discussione e Conclusioni

L'analisi globale dei nostri dati evidenzia che la determinazione della CDT è l'unico parametro biochimico in grado di coadiuvare il clinico nel monitoraggio del Paziente con sospetto abuso alcolico e nella valutazione della compliance con la terapia in atto. Sia la GGT che l'MCV posseggono insufficienti valori di sensibilità e specificità in quanto, entrambi i parametri, sono influenzati in maniera significativa dalle patologie d'organo intercorrenti (Epatite Cronica, Steatosi, Cirrosi) e dalle terapie di supporto impiegate. Riteniamo pertanto di proporre che il protocollo per il monitoraggio dell' Abuso alcolico preveda la sola esecuzione della CDT.

MARCATORI PLASMATICI DI LIPOPEROSSIDAZIONE NEGLI ULTRANOVANTENNI: MDA, ANTICORPI ANTI-MDA E LIVELLI DI VITAMINA E

N. Traverso^a, S. Patriarca^a, E. Balbis^a, D. Cottalasso^a, M.A. Pronzato^a, P. Carlier^b, F. Botta^c, L. Fontana^c

^aDipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Patologia Generale, Università di Genova

^bCentro Trasfusionale, Ospedale S. Martino, Genova

^cOpera Don Orione di Genova, Centro Studi Medico-Scientifico, Genova

Scopo del lavoro

Numerosi autori hanno focalizzato l'attenzione sull'importanza che le reazioni radicaliche ossidative rivestono in vari processi fisiopatologici, tra cui l'invecchiamento. Scopo di questo lavoro è stato valutare alcuni parametri plasmatici che possono essere utili quali biomarcatori di equilibrio ossidativo in vivo in una popolazione di ultranovantenni sane, paragonandola ad una popolazione di donatori di sangue; tale studio si inserisce nella ricerca sul ruolo e l'entità dello stress ossidativo nell'invecchiamento, in particolare nell'invecchiamento "di successo", quale appunto quello di ultranovantenni sane.

Materiali e metodi

Sono state studiate 41 donne istituzionalizzate sane (età 93.5 ± 2.2 anni) e confrontate con 43 soggetti donatori di sangue sani (età 43.1 ± 11.4). Sono stati valutati i seguenti parametri plasmatici: a) concentrazione di malondialdeide (MDA) totale, eseguita per mezzo di test all'acido tiobarbiturico; tale analita è un indicatore di avvenuta lipoperossidazione, essendone uno dei sottoprodotti principali (1). b) titolo anticorpale anti addotto MDA-albumina (anti MDA-HSA), valutato in un sistema ELISA home-made; tale titolo è da vari autori considerato un indice indiretto del danno ossidativo proteico mediato da aldeidi di perossidazione; non essendo disponibile un siero standard umano, la calibrazione veniva effettuata per mezzo di un pool concentrato e parzialmente purificato di sieri umani, cui è stato attribuito il valore di 1 unità arbitraria (AU); c) dosaggio in HPLC della vitamina E, considerato tra i maggiori antiossidanti lipofili. I dati sono espressi in media \pm SEM.

Risultati

La concentrazione plasmatica di MDA era significativamente superiore nel gruppo delle ultranovantenni rispetto ai donatori di sangue (1260 ± 38 vs 1117 ± 21 pmol/ml; $p < 0.01$). Anche il titolo anticorpale anti MDA-HSA era significativamente superiore nelle ultranovantenni che nei donatori di sangue (731 ± 144 vs 290 ± 42 mAU/ml; $p < 0.001$). I livelli di vitamina E erano lievemente, ma non significativamente inferiori nel gruppo delle ultranovantenni che nei donatori di sangue (30.42 ± 1.34 vs 27.26 ± 1.60 nmol/ml; $p > 0.05$).

Discussione e conclusioni

Nei soggetti ultranovantenni la maggiore concentrazione di MDA testimonia un incremento del fenomeno lipoperossidativo; tale dato è confermato dal maggior titolo anti MDA-HSA dei soggetti ultranovantenni. L'eventuale ruolo protettivo di tali anticorpi contro l'accumulo di proteine danneggiate ossidativamente è tuttora in discussione (2), e potrebbe rappresentare un meccanismo ed un segnale del successo nell'invecchiamento delle ultranovantenni. Il livello conservato di vitamina E nelle ultranovantenni potrebbe inoltre conferire a tale popolazione un profilo antiossidante particolarmente efficace.

1. Esterbauer H and Cheeseman KH. Methods Enzymol 186, 407-421, 1990.

2. Shaw PX et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 21, 1333-9, 2001.

POLIMORFISMO DEL GENE DELLA MTHFR, OMOCISTEINA E DANNO ENDOTELIALE

Cesaretti Simonetta*; Lepori Maria*, Mitrione M.Pia *

*I.N.R.C.A-Firenze-v.le Michelangiolo,41-c/o IOT

Le basi sperimentali del ruolo dell'omocisteina nella patologia cardiovascolare partono dalle ricerche di Veland che indusse lesioni vascolari nel babuino infondendo omocisteina per 3 mesi. L'omocisteina potrebbe essere tossica per l'endotelio determinando una ridotta produzione di NO (Stamler -"Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium, derived relaxing factor and related oxides of nitrogen".J.CI.Invest 1993-91; 108-18) La vasodilatazione dopo carico di metionina è notevolmente ridotta rispetto ai controlli (Lancet:John Chambers: J3-1998-"Acute hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction"-Research Letters). Inoltre l'omocisteina potrebbe agire anche come agente trombogeno interferendo nella espressione della trombomodulina e nell'attivazione della Proteina C.

Abbiamo studiato 31 soggetti di età compresa tra 38 e 76 aa., di cui 25 di sesso maschile e 6 di sesso femminile, affetti da iperomocisteinemia. Scopo dello studio è stato quello di valutare se il danno endoteliale, misurato con la determinazione di NO, sia costante o diversifici nei casi in cui terapie farmacologiche, danno renale, malassorbimento di B12 o acido folico ne siano la causa, da quello in cui esiste il polimorfismo genetico per MTHFR-C677T

Materiale e metodi :

L'omocisteina è stata dosata con metodo immunochimico; il nitrossido con il metodo di Griess.

Il polimorfismo della MTHFR (C677T) è stato studiato mediante PCR. Dopo aver estratto il DNA dai linfociti del sangue periferico, si amplifica con idonei primers il frammento che può contenere la mutazione C677T per la MTHFR.

Tale frammento di 198 bp viene sottoposto a digestione enzimatica con Hinf I. Dopo aver sottoposto ad elettroforesi il prodotto della digestione, la presenza di un frammento di 175 bp rivela l'esistenza di T, da cui:

C/C= assenza di polimorfismo genetico

C/T= eterozigosi

T/T= omozigosi.

I risultati sono riportati nella tabella 1 .

MTHFR (C677T)	OMOCISTEINA (µM)	NO (µM)	MTHFR (C677T)	OMOCISTEINA (µM)	NO (µM)
Positivi	v.n. inf.12 M. v.n. inf.11 F	v.n. 25-45	Negativi	v.n.inf. 12 M. v.n. inf. 11 F	v.n.25-45
1-C/T	18,7	12,1	22-C/C	19,8	37,2
2-C/T	37,5	16,3	23-C/C	26,5	30,2
3-C/T	12,7	24,6	24-C/C	14,1	28,2
4-C/T	16,6	18,4	25-C/C	15,5	22,8
5-T/T	17,6	20,0	26-C/C	12,9	26,7
6-C/T	12,3	23,4	27-C/C	17,6	25,0
7-C/T	16,8	32,0	28-C/C	21,0	29,0
8-C/T	14,7	37,0	29-C/C	14,0	22,6
9-T/T	20,4	44,0	30-C/C	18,8	40,0
10-C/T	14,8	18,3	31-C/C	14,7	21,0
11-C/T	19,1	22,7			
12-C/T	12,2	30,6			
13-C/T	15,4	27,6			
14-C/T	16,6	28,2			
15-C/T	14,7	17,6			
16-T/T	13,5	19,8			
17-C/T	14,2	30,2			
18-C/T	14,6	10,7			
19-C/T	27	13,6			
21-T/T	15,9	18,9			

Le variazioni del nitrossido sembrano essere indipendenti dai valori dell'omocisteina e dai polimorfismi genetici:

1° Gruppo (MTHFR Pos.) M+/- DS = 23,3+/-8,55 2° Gruppo (MTHFR Neg.) M+/- DS = 28,25+/-6,22

La diminuzione dei valori osservata in buona parte dei casi (55 %) può essere forse dovuta alla più o meno lunga persistenza nel tempo dell' iperomocisteinemia.

L'Angiotensina II inibisce gli effetti stimolatori dell'insulina sulla produzione di NO alterando la via di trasduzione AKT – eNOS

E Laratta, F Andreozzi, R Ceravolo, G Cuda, F Perticone

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica *G. Salvatore*.

Università degli Studi *Magna Graecia* di Catanzaro.

E' noto che l'Angiotensina II (AT II) esercita effetti dannosi sulla funzione vascolare stimolando la proliferazione cellulare ed alterando la biodisponibilità di NO.

Studi recenti hanno dimostrato che l'AT II esercita un effetto inibitorio sull'attivazione indotta dall'insulina dell'enzima fosfatidil – inositolo 3 chinasi (PI3K) che determina una serie di eventi a cascata tra cui l'attivazione della serina/treonina chinasi AKT/PKB.

Recenti evidenze hanno dimostrato che uno dei substrati di AKT/PKB è l'enzima ossido nitrico sintasi endoteliale (eNOS) la cui espressione-attività è regolata dall'insulina. Non è noto se l'AT II eserciti i suoi effetti inibitori sul segnale di trasduzione dell'insulina a livello della via AKT – eNOS.

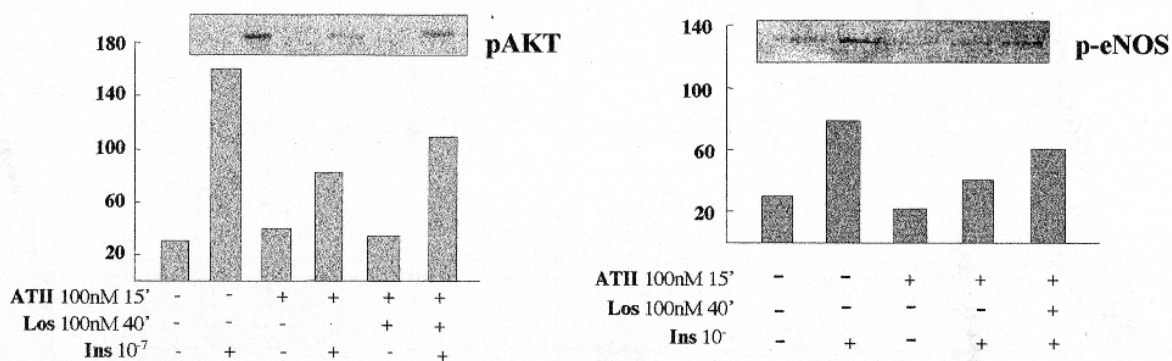
Scopo del Lavoro

In questo studio abbiamo valutato la possibile interferenza dell'AT II sull'attivazione di eNOS in cellule endoteliali umane di cordone ombelicale (HUVECs).

Materiali e Metodi

Le cellule sono state trattate con 10^{-7} M insulina in assenza ed in presenza di 100nM AT II. L'insulina induce un aumento di quattro volte la fosforilazione di AKT/PKB, valutata mediante Western blot con anticorpo anti phospho ser 473 di AKT/PKB. La coincubazione di insulina con AT II determinava una riduzione del 50% dell'attivazione di AKT/PKB, senza variazioni dell'attivazione basale, cioè in assenza di fattori di crescita. L'antagonista del recettore AT I dell'AT II Losartan era in grado di ripristinare di circa il 70% l'effetto stimolatorio dell'insulina.

Inoltre l'insulina aumentava di circa 4 volte la fosforilazione di eNOS, valutata mediante Western blot con anticorpo anti phospho ser 1177. Tale effetto era inibito del 40% dalla coincubazione con AT II, mentre il Losartan era in grado di ripristinare di circa l'80% la fosforilazione indotta dall'insulina.



Discussione e Conclusioni

I dati suggeriscono che l'AT II può inibire gli effetti stimolatori dell'insulina sulla produzione di NO attraverso una alterazione della via di trasduzione del segnale che coinvolge PI3K/AKT/eNOS. Gli antagonisti del recettore AT I potrebbero avere un importante ruolo protettivo della funzione endoteliale in condizioni di aumentata attivazione del sistema renina – angiotensina.

PREVALENZA DEI DIVERSI GENOTIPI DEL VIRUS DELL'EPATITE C NELL'ITALIA CENTRALE

M. Lio, G. De Soccio, M. Cenci, O. Recchia

Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Presidio Addolorata, Complesso Ospedaliero Azienda Ospedaliera S. Giovanni Addolorata, Roma

Scopo del lavoro

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di analizzare la prevalenza dei diversi genotipi del virus dell'epatite C (Human C Virus: HCV) nell'Italia centrale (Lazio).

Materiali e Metodi

E' stato identificato il genotipo dell'HCV di 717 pazienti afferenti al nostro laboratorio da settembre 1999 a luglio 2002. L'HCV-RNA è stato individuato nel siero mediante il sistema COBAS Amplicor HCV monitor versione 2.0 (Roche Diagnostic Systems Inc., Branchburg NJ, USA) che sfrutta una metodica di biologia molecolare come la reazione polimerasica a catena (PCR: Polymerase Chain Reaction) e la tecnica dell'immunoperossidasi. I "primers" utilizzati per la PCR sono KY78 e KY80 ed amplificano una sequenza altamente conservata del genoma virale costituita da 244 nucleotidi. Tale sequenza è identificata e quantizzata mediante il legame con sonde coniugate all'enzima perossidasi di rafano. In presenza di perossido d'idrogeno, il substrato o cromogeno TMB (tetra-metil-benzidina), ossidandosi, diventa visibile colorimetricamente e se ne può valutare l'assorbanza.

Parte del materiale genomico virale amplificato è stato utilizzato per l'identificazione del genotipo dell'HCV mediante un metodo di ibridazione inversa che sfrutta la tecnica dell'immunofosfatasi alcalina (INNO-LiPA HCV II, Innogenetics NV, Belgium): sonde diverse, che legano parti dell'amplificato specifiche per i differenti genotipi, sono adese ad una membrana di nitrocellulosa ("strip") in zone o linee ("lines") parallele. Dopo l'ibridazione, il cromogeno BCIP/NBT (5-bromo-4chloro-3-indolyphosphate and nitroblue tetrazolium: 5-bromo-4-cloro-3-indolo-fosfato e nitroblu di tetrazolio), in presenza di fosfatasi alcalina, si manifesta come precipitato bruno a livello delle linee suddette. In base all'analisi delle diverse linee scure, si determina il genotipo. Tale metodo identifica i 6 principali genotipi dell'HCV.

Risultati

Il 39,4% (282 casi) dei pazienti considerati presentava il genotipo 1b; il 33,3% (238 casi) il 2a/2c; l'11,4% (82 casi) il 3a; l'8,8% (63 casi) l'1a, il 2,9% (21 casi) il 4c/4d. Il 3,4% dei casi presentava i seguenti genotipi: 1 (1,1%, 8 casi), 1a/1b (1%, 7 casi), 2 (0,7%, 5 casi), 4 (0,4%, 3 casi), 3b (0,1%, 1 caso) e 4h (0,1%, 1 caso). Le pluri-infezioni riscontrate comprendevano 6 casi (0,8%): 2 casi con genotipi 4a e 2a/2c, 2 casi con 1a e 2a/2c, 1 caso con 3a e 4c/4d, ed infine 1 caso con i genotipi 4c e 2a/2c.

Discussione e Conclusioni

L'HCV presenta diversi genotipi che manifestano una differente possibilità di evoluzione ad epatite cronica, cirrosi e conseguentemente a cancro epatico. L'identificazione del genotipo è utile per poter adottare un opportuno trattamento terapeutico.

I nostri risultati confermano i dati presenti in letteratura che mostrano come, in Italia, il genotipo 1b sia maggiormente frequente (circa nel 40% dei casi; è associato alla prognosi peggiore) seguito dal genotipo 2a/2c (33% dei casi).

LA CITOCHERATINA 20 QUALE MARKER DI MICROMETASTASI CIRCOLANTI DI ORIGINE EPITELIALE: RICERCA MEDIANTE REAL TIME PCR QUANTITATIVA

L. Simula, E. Rimini, P. Tolu*, A. Pinna, G. Maddau, F. Mannu*, F. Turrini*, G.B. Cherchi.

Laboratorio di Analisi, Ospedale Civile SS.ma Annunziata, Sassari. Nurex Bioresearch, Sassari*

Scopo del lavoro

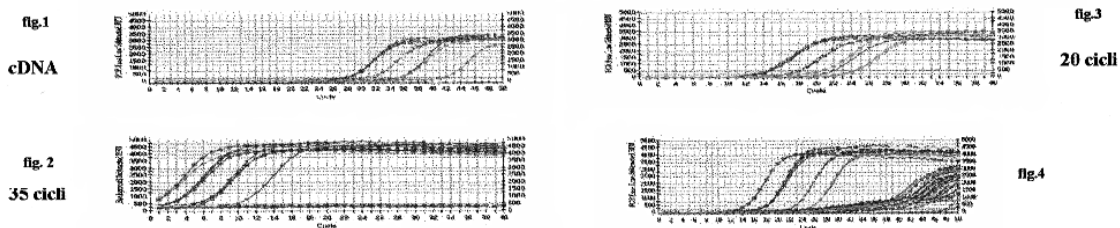
Mettere a punto e standardizzare una metodica in *Real Time PCR* quantitativa per evidenziare e dosare la presenza in circolo di cellule positive per la citocheratina 20 (CK20), per un eventuale utilizzo quale marker precoce di cellule neoplastiche di origine epiteliale.

Pazienti e Metodi

Lo studio è stato condotto su 255 campioni di sangue periferico, 125 dei quali provenienti da donatori sani, 71 da pazienti affetti da neoplasia del colon (47 in fase non metastatica e 24 in fase avanzata) e 59 da pazienti con neoplasia della mammella (46 in fase non metastatica e 13 in fase avanzata). I campioni sono stati raccolti prima dell'inizio del trattamento chemioterapico, avendo cura di utilizzare la terza provetta prelevata, per evitare contaminazioni da parte di cellule epiteliali cutanee che sono CK 20 positive. L'indagine molecolare è stata effettuata su cellule mononucleate separate su gradiente di densità (Ficoll-Hypaque), estrazione dell'RNA messaggero dopo lisi cellulare, cattura dell'acido nucleico mediante resina a base di silice ad altissima affinità, retrotrascrizione. L'approccio metodologico è stato condotto valutando 3 vie alternative: 1) amplificazione quantitativa in *Real Time PCR* con chimica Syber Green I dye; 2) pre-amplificazione qualitativa di 35 cicli seguita da *Real Time PCR* quantitativa; 3) pre-amplificazione qualitativa di 20 cicli seguita da *Real Time PCR* quantitativa (Quanti Mix, Nurex Bioresearch).

Risultati

L'approccio metodologico n.1 non mostrava una netta separazione tra il gruppo di controllo (CK20 negativi) e i pazienti neoplastici (CK20 positivi) (fig.1); il n.2 aveva una buona specificità ma non consentiva una precisa quantificazione del numero di cellule (fig.2); il n.3 ha permesso una esatta quantificazione del numero di cellule presenti (fig.3) e discrimina efficacemente tra il gruppo di controllo e quella percentuale di pazienti neoplastici non metastatici CK20 positivi (92% per neoplasie del colon, 60.8% per neoplasie della mammella), soprattutto nei campioni con bassa espressione (1cell CK20 positiva /ml) (fig.4).



Discussione e Conclusioni

La pre-amplificazione qualitativa di 20 cicli seguita da *Real Time PCR* quantitativa ha dimostrato una sensibilità in grado di discriminare una singola cellula CK 20 positiva/ml e una specificità assoluta (nessun falso positivo). La CK20 può quindi rappresentare un marker ideale per la ricerca di micrometastasi circolanti precoci nel *follow up* clinico dei pazienti con tumore di origine epiteliale.

NAT HCV-HIV ESPERIENZA ORGANIZZATIVA, DAL PRELIEVO AL REFERTO PRIMI RISULTATI, FOLLOW UP DI UN DONATORE

L. Scarparo, A. Candia, S. Previato, L. Tretti, D. Zarantonello, M.C. Bettini

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Servizio Immunotrasfusionale, U.L.S.S. 6 Vicenza

Scopo del lavoro

Scopo della presentazione è l'organizzazione con i primi risultati di NAT HCV-HIV come esame di validazione delle unità trasfusionali per le U.L.S.S. 5 e U.L.S.S. 6.

Materiali e metodi

In ottemperanza alla normativa vigente è stato introdotto lo screening per HCV-RNA mediante tecnica di amplificazione genetica (NAT). Il laboratorio NAT è stato allestito secondo i requisiti della Chiron, vincitrice della gara di appalto. Per l'esecuzione del test, sono stati formati 4 tecnici dei quali 1-2 operano quotidianamente nel settore NAT coordinati da un Dirigente Medico. Vengono eseguite 1-2 sedute di 91 campioni (+ 9 calibratori) al giorno. Le provette sono prelevate in parte presso il Centro Raccolta Sangue e parte presso i SIT di Montecchio, Arzignano, Valdagno e Noventa e trasportate a Vicenza. Tutte le provette sono identificate con codice a barre univoco per la gestione informatica di test/referto. La NAT è stata fatta in doppio con HCV-Antigene per il mese di ottobre, mentre dal 31/10/01 è inserita nel profilo di validazione.

Risultati

1 Ottobre 2001 - 31 Agosto 2002			
	Totale	Invalidi	%
N° test eseguiti*	28.273	72	0,25 %
N° sedute	419	12	2,86 %

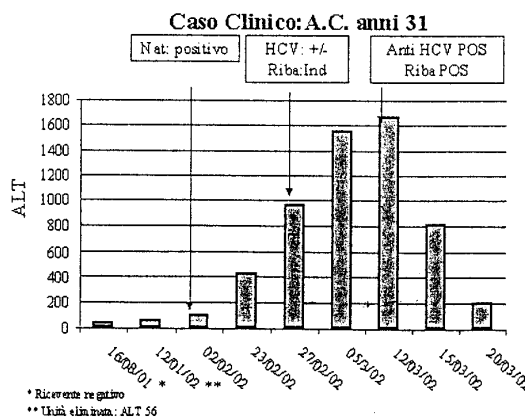
* 67,48 test / seduta

CAMPIONI ANALIZZATI						
	N°	NEG	Inizialmente reattivi	Reattivi ripetuti	Positivi NAT HCV	Positivi NAT HIV
Test	28.295	28.232	63	18	18	0
Donazioni ULSS 6	19.229	19.200	40	0	0	0
Donazioni ULSS 5	6.271	6.260		0	0	0
Controlli donatori/pazienti	2.795	2.772	23	18	18	0
Calibratori	3.771					

1 Ottobre 2001 - 31 Agosto 2002

ANALISI DEI CAMPIONI REATTIVI

		Anti HCV
n° 7	Follow-up	POSITIVO
n° 6	Aferesi Terapeutica	POSITIVO
n° 1	Politrasfuso	POSITIVO
n° 1	Donatore	NEGATIVO
n° 2	Autotrasfusione	POSITIVO
n° 1	Autotrasfusione	NEGATIVO



Discussioni e conclusioni

Il sistema automatizzato Chiron Procleix TMA HIV/HCV è risultato adeguato ai carichi di lavoro del nostro laboratorio; la refertazione avviene entro 24-48 ore. Il tempo di esecuzione dell'analisi e il basso numero di test invalidi, hanno consentito il normale espletamento dell'attività trasfusionale. L'acquisizione di esperienza da parte degli operatori ha permesso di ridurre ulteriormente il n° di test da ripetere. E' stato individuato un donatore HCV Ab negativo in fase precoce di infezione con transaminasi elevata, e un' autotrasfusione con NAT positiva per HCV e non ancora sierconvertito. Il test NAT non ha modificato il nostro comportamento riguardo ai test immunometrici, ma ci permette di lavorare con più tranquillità.

DIAGNOSI MOLECOLARE DI LEUCEMIE E LINFOMI: CONSUNTIVO DI UN ANNO DI INDAGINE

E. Rimini, L. Simula, G. Maddau, A. Pinna, P. Tolu*, F. Mannu*, F. Turrini*, G.B. Cherchi.

Laboratorio di Analisi, Ospedale Civile SS.ma Annunziata, Sassari. Nurex Bioresearch, Sassari*

Scopo del lavoro

A partire dall'agosto 2001, presso il settore di Biologia Molecolare del Laboratorio di Analisi dell'Ospedale SS.ma Annunziata di Sassari, è iniziato lo studio di marcatori molecolari di leucemie e linfomi utilizzando tecniche di amplificazione genica sia qualitativa che quantitativa.

Pazienti e Metodi

Sono stati analizzati campioni di sangue (periferico o midollare) di 91 pazienti affetti da differenti forme di leucemie e linfomi. Dopo separazione delle cellule mononucleate mediante gradiente di densità (Ficoll-Hypaque), veniva estratto l'RNA messaggero, successivamente sottoposto a retrotrascrizione ed amplificazione genica qualitativa. I marcatori molecolari studiati in PCR qualitativa sono stati il gene ibrido BCR/ABL P210 per la leucemia mieloide cronica (LMC), i geni di fusione AML1/ETO, PML/RARA, CBFβ/MYH11 per le leucemie mieloidi acute (LMA), E2A/PBX1, MLL/AF4, BCR/ABL P190, TEL/AML1, SIL/TAL1 per le leucemie linfatiche acute (LLA), l'espressione del gene bcl-2 per il linfoma follicolare non Hodgkin (LNH). Pazienti affetti da LMC, leucemia promielocitica acuta (LPA) e LNH sono stati monitorizzati mediante tecniche di *Real Time PCR* quantitativa allo scopo di seguirne il decorso pre e post chemioterapia. La metodica di *Real Time PCR* quantitativa utilizzata era basata sul principio TaqMan, con ABI PRISM 7700 Sequence Detector (Perkin Elmer).

Risultati

PROVENIENZA	N. PAZIENTI	BCR/ABL P210	PML/RARA	AML1/ETO	CBFβ/MYH11	BCR/ABL P190	E2A/PBX1	MLL/AF4	TEL/AML1	SIL/TAL1	BCL2
Oncologia	46	10	5	6	3	6	1	1	1	1	29
Ematologia	18	3	2	10	3	2					5
Esterni	13	3		2	2	3	2	2	2	2	7
Medicina III	4										4
Pediatria	3		1				1	1		1	1
Medicina I	3	1		1	2	1					1
Patologia Medica	1										1
Clinica Medica	1										1
Oncologia Olbia	2	1					1	1	1	1	
TOTALE	91										

Discussione e Conclusioni

Il nostro studio ha contribuito alla diagnosi finale delle diverse forme di leucemie e linfomi. Gli utenti della provincia di Sassari fruiscono di un nuovo centro territoriale per la ricerca dei marcatori molecolari nelle patologie onco-ematologiche, con notevole riduzione dei tempi di diagnosi e della spesa sanitaria. Le nuove metodiche di PCR quantitativa in corso di standardizzazione, permetteranno importanti sviluppi diagnostico-terapeutici nella valutazione della *malattia minima residua* e forniranno importanti informazioni in ordine all'efficacia delle terapie impiegate e alla biologia delle neoplasie ematologiche.

Il test combinato nella diagnosi prenatale delle trisomie: ruolo del laboratorio

M. Carta*, P. Catapano°, A. Fortunato*, G. Mezzena*, R. Sposetti°, G. Soffiati*

*Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, °Divisione di Ostetricia e Ginecologia

Ospedale "S. Bortolo", Vicenza

INTRODUZIONE: Nel nostro Ospedale dal 1° Ottobre 2001 lo screening per la diagnosi prenatale della sindrome di Down viene eseguito con il test combinato. Tale indagine si basa sulla combinazione della misurazione della translucenza nucale (STN) (raccolta di fluido compresa tra la cute e la colonna cervicale del feto), il dosaggio di due parametri biochimici materni, free β -hCG proteina A plasmatica associata alla gravidanza (PAPP-A) e l'età materna. Tale modalità di screening ha dimostrato una buona detection rate (89%) con 5% di falsi positivi (Spencer K, Ultrasound Obstet Gynecol

MATERIALI E METODI: Il test viene eseguito tra la 11½ e la 13½ settimana di gestazione, in maniera coordinata tra il Servizio Ecografico di Diagnostica Antenatale e il Laboratorio del nostro ospedale. La misura della translucenza nucale viene svolta solo da ecografisti accreditati presso la Fetal Medicine Foundation (FMF) di Londra. Il dosaggio di free β -hCG (Immulate, DPC, Los Angeles) e PAPP-A (Buhlmann Laboratories, Switzerland) viene espresso in multipli di mediana (MoM) calcolati su popolazione locale di riferimento e plottati in base alla settimana gestazionale determinata ecograficamente. Il modello statistico utilizzato per l'elaborazione del calcolo è quello ideato dalla FMF basandosi su 100.000 pazienti sottoposte a screening.

RISULTATI: Nei primi 10 mesi di attività abbiamo eseguito lo screening su 613 gravide. La nostra esperienza è però troppo recente per fornire dati adeguati di sensibilità e specificità, ma descriveremo alcuni casi particolari osservati.

	Età (anni)	STN (mm) Rischio in base a STN (1:x)	B-hCG (MoM) PAPP-A (MoM) Rischio su base biochimica (1:X)	Rischio combinato (età + STN + biochimica) (1: X)	Diagnosi dopo amniocentesi
PP	32	2.9 mm 1: 74	0.91 MoM 0.10 MoM 1:9	1: 7	S. Down
AC	29	3.6 mm 1: 42	0.43 MoM 1.28 MoM 1:4987	1: 294	46 XX
SMC	33	4 mm 1: 8	0.25 MoM 0.18 MoM 1: 7	1: 5	Trisomia 18
MC	37	1.4 mm 1: 608	5.95 MoM 1.25 MoM 1:14	1: 54	46 XX
GA	28	1.1 mm 1: 6281	1.68 MoM 0.23 MoM 1: 31	1: 248	46 XX
SM	28	3.6 mm 1: 76	0.56 MoM 0.94 MoM 1: 5121	1: 182	Trisomia 13
SS	30	1.5 mm 1: 2740	3.89 MoM 0.26 MoM 1: 10	1: 44	S. Down

DISCUSSIONE: Sebbene l'algoritmo di calcolo privilegi i dati relativi alla STN che sembra in grado di evidenziare da sola anche trisomie diverse dalla 21 (caso SM), tuttavia è necessario sottolineare come il laboratorio giochi un ruolo fondamentale e a volte unico nell'individuazione della sindrome di Down (caso SS).

IL dosaggio della chimotripsina su feci essiccate: suo possibile impiego nella diagnostica della fibrosi cistica (FC)

O. Radillo, E. Ciacchi, I. Zornada, R. Simeone, A. Leopaldi, °L. Giglio, °C. Loganes, S. Parco

Laboratorio Ricerche cliniche, °Centro Fibrosi Cistica. IRCCS Burlo Garofolo, Trieste

Scopo del lavoro

Con il presente lavoro intendiamo mettere a punto un metodo per la determinazione della chimotripsina su feci essiccate e conservate. In tal modo il campione può essere strisciato in sede periferica (ambulatorio, consultorio) e successivamente inviato per posta ad un laboratorio centralizzato. Gli obiettivi preliminari sono quelli di determinare la chimotripsina nelle feci, valutando la correlazione fra il metodo a "secco" e quello a "fresco" (che nel nostro caso rappresenta il metodo di riferimento); è inoltre importante confrontare le eventuali variazioni nel tempo dell'attività enzimatica della chimotripsina determinata su campioni di feci essiccate rispetto le feci fresche.

Materiali e Metodi

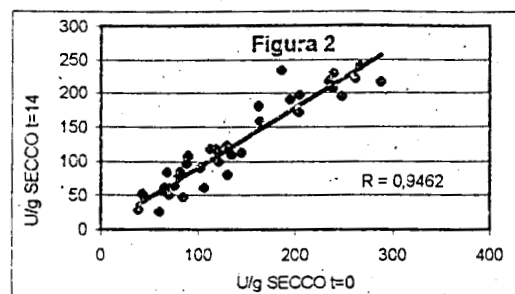
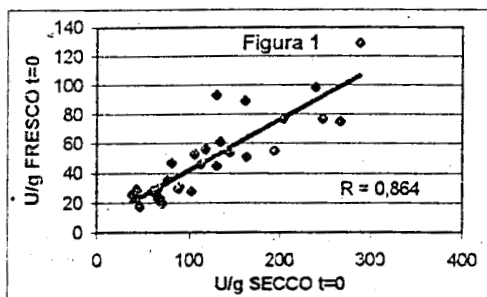
Abbiamo dosato la chimotripsina con un test colorimetrico (CHYMO-Cobas Roche) su 37 campioni appartenenti a neonati e lattanti; ogni campione è stato inviato al laboratorio in doppio (a fresco, e strisciato a secco su carta bibula). Con questa metodica semiquantitativa sono stati determinati i valori della chimotripsina al tempo 0, dopo 7 giorni e dopo 14 giorni. Le feci fresche appena raccolte sono state conservate a +4° C.

Risultati

Il dosaggio della chimotripsina calcolata a secco ha fornito valori che mediamente risultano essere il doppio di quelli calcolati con il metodo a fresco. L'attività della chimotripsina negli intervalli di tempo considerati presenta un decadimento più marcato per il metodo a fresco (15%) rispetto al metodo a secco (10%). La correlazione dei due metodi considerati ha fornito un $r = 0.864$ al tempo 0 (fig. 1). La correlazione fra i valori ottenuti con il metodo a secco al tempo 0 vs quelli al tempo 14 gg dello stesso metodo ($r = 0.9462$; fig. 2) è risultata migliore rispetto il metodo a fresco ($r = 0.9088$).

Discussione e conclusioni

I vantaggi di una diagnosi precoce di fibrosi cistica (FC) sono noti e numerose disposizioni legislative raccomandano l'avvio di programmi di identificazione della malattia. Nel Friuli-Venezia Giulia è sorto sin dal 1993 un programma regionale di screening neonatale. Il nostro contributo alla identificazione di un metodo che permetta l'invio di campioni biologici presso un laboratorio centralizzato per un test non invasivo né indaginoso di funzionalità pancreatica, dimostra che al tempo 0 il metodo "a secco" ha una buona correlazione con il metodo "a fresco", confermando inoltre l'ipotesi di un maggior decadimento di attività nel campione "a fresco".



CORRELAZIONE TRA VALORI PLASMATICI DI OMOCISTEINA E REPERTI ANGIOGRAFICI IN UNA POPOLAZIONE DI PAZIENTI SOTTOPOSTI A CORONAROGRAFIA DIAGNOSTICA

Curci V¹, Armotti D¹, Imperadore F², Musuraca G², Vergara G², Schinella M¹.

¹Laboratorio di Chimica Clinica e Microbiologia, ²Unità Operativa di Cardiologia, Ospedale di Rovereto, piazzale S.Maria, 38068 Rovereto (TN)

Introduzione. L'aumento dei valori plasmatici di omocisteina (Hcy) è stato recentemente considerato un fattore di rischio per lo sviluppo di coronaropatia (CAD). È noto, infatti, che l'iperomocisteinemia può stimolare la proliferazione delle cellule muscolari lisce della parete arteriosa e peggiorare la risposta vasodilatatrice endoteliale. Scopo del nostro lavoro è stato quello di prendere in considerazione, oltre ai tradizionali fattori di rischio cardiovascolare, anche la relazione tra i livelli plasmatici di Hcy e i reperti angiografici in una popolazione di pazienti sottoposta a coronarografia diagnostica (CGF).

Materiali e metodi. 47 pazienti consecutivi (età media 64.4 ± 11 anni, 32 U, 15 D) sono stati inclusi nello studio. Il dosaggio della Hcy ($VN < 15 \mu\text{mol/L}$) è stato eseguito su analizzatore Abbott AxSYM che utilizza la tecnica di dosaggio MEIA (dosaggio immunoenzimatico a cattura di microparticelle). Le stenosi coronariche sono state suddivise alla CGF come significative ($> 50\%$) e non significative ($< 50\%$). La severità della CAD veniva valutata in base al numero delle arterie coronarie (arteria discendente anteriore, arteria circonflessa e arteria coronaria destra) interessate da una stenosi significativa. La stenosi del tronco comune senza stenosi della coronaria destra, veniva classificata come malattia bivasale. I pazienti sono stati divisi in quattro gruppi in accordo al numero delle coronarie malate (gruppo 0-coronarie sane-di controllo, gruppo 1- monovasali, gruppo 2-bivasali, gruppo 3-trivasali).

Risultati. Dei 47 pazienti, 14 (30%) non avevano segni angiografici di CAD, 11 (23%) avevano un interessamento monovasale, 10 (21%) erano bivasali e 12 (26%) trivasali. Tra i tradizionali fattori di rischio cardiovascolare (età, sesso, fumo, ipertensione, diabete e dislipidemia), solo il sesso maschile appariva statisticamente legato a una maggiore estensione della CAD (57% vs 33% per il gruppo 0, $p = 0.4$, 82% vs 18% per il gruppo 1, $p = 0.000001$, 70% vs 32% per il gruppo 2, $p = 0.02$, 67% vs 33% per il gruppo 3, $p = 0.05$), mentre si osservava un trend per l'età (60.4 ± 12 anni nel gruppo 0 vs 64.4 ± 11 anni nel gruppo 3, $p = 0.2$), per l'ipercolesterolemia (21% nel gruppo 0 vs 67% nel gruppo 3, $p = 0.06$), per il diabete (0% nel gruppo 0 vs 17% nel gruppo 3, $p = 0.1$) e per il tabagismo (14% nel gruppo 0 vs 33% nel gruppo 3, $p = 0.2$). Il dosaggio plasmatico della Hcy evidenziava un valore medio che non differenziava in maniera statisticamente significativa per i gruppi 0, 1 e 2 (14 ± 5.7 , 14.1 ± 8.3 , 13.1 ± 3.3 , $p = \text{NS}$), mentre vi era un trend verso un valore più elevato nel gruppo 3 (15.1 ± 7.2 , $p = 0.3$) e qualora venisse coinvolto il tronco comune (19.55 ± 9.5 , $p = 0.07$).

Conclusioni. Il nostro studio, seppure limitato dalla esiguità del campione analizzato, suggerisce che un valore elevato di Hcy ($> 15 \mu\text{mol/L}$) possa essere annoverato come fattore di rischio cardiovascolare indipendente condizionante l'estensione e la severità della CAD.

Bibliografia

Schnyder G, R Pin, M Roffi, Y Flammer, O M Hess. Association of plasma Homocysteine with the number of major coronary arteries severely narrowed. Am J Cardiol 200;88:1027-30.

Efficacia del referto commentato nel modificare il percorso diagnostico: il caso del test di O'Sullivan

M. Carta, D. Giavarina, G. Soffiati

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia

Ospedale "S. Bortolo", Vicenza

SCOPO DEL LAVORO: L'American Diabetes Association (ADA), raccomanda come cut off per il test di O'Sullivan il valore di 140 mg/dL. Una nostra osservazione preliminare aveva evidenziato come in realtà, molte delle pazienti con valori positivi non si sottoponevano all'approfondimento diagnostico (curva da carico con 100 g di glucosio). Abbiamo quindi deciso di codificare un commento in tutti i referti positivi (≥ 140 mg/dL) che ricordasse ai medici curanti l'opportunità di approfondire le indagini. In questo studio abbiamo quindi valutato se l'inserimento di tale commento poteva modificare il comportamento dei medici dei pazienti.

MATERIALI E METODI: Abbiamo analizzato tutte le curve da carico orale di glucosio per os (50g) eseguite nelle gravide presso il nostro Laboratorio nel periodo compreso tra il 1° giugno 2000 e il 1° giugno 2001, verificando quante tra le pazienti con un valore patologico (≥ 140 mg/dL al prelievo eseguito dopo 60' dal carico orale) si siano poi ripresentate presso il nostro laboratorio o presso il centro antidiabetico o presso il Reparto di Ginecologia e Ostetricia per effettuare l'approfondimento diagnostico suggerito dall'ADA con la curva da carico con somministrazione di 100 g di glucosio per os e prelievi fino alla 3^a ora. La stessa analisi è stata poi ripetuta per il periodo successivo (dal 15 giugno 2001 al 15 giugno 2002), dopo l'inserimento del commento sul referto.

RISULTATI: Nell'epoca pre-commento sono state viste 1143 pazienti (età media=31,7 anni) di cui 895 negative allo screening e 248 positive (glicemia dopo 60' superiore a 140 mg/dL). Nell'anno successivo all'inserimento del commento, le pazienti sono state 1307 (età media 32 a) di cui 992 negative e 315 positive. Tra le pazienti positive solo il 64,9% ricorse all'approfondimento diagnostico nell'epoca pre-commento, mentre questa percentuale salì all'81,9% dopo il referto commentato ($p < 0,0001$ Chi - square test). Analizzando per fasce di risultati si evidenzia come la differenza sia soprattutto a carico dei test con valori compresi tra 140 e 149 mg/dL (49,5% pre-commento vs 74,2% post-commento $p=0,0005$) e per i valori > 170 mg/dL (70% vs 89,7%, $p < 0,01$). (vedi tabella 1)

	140-149 mg/dL	150- 169 mg/dL	> 170 mg/dL	totale
pre-commento	49.5% (52 su 105)	79.5% (74 su 93)	70% (35 su 50)	64.9% (161 su 248)
post-commento	74.2% (72 su 97)	82.8% (116 su 140)	89.7% (70 su 78)	81.9% (258 su 315)
p (chi-square test)	0,0005	n.s.	<0.01	<0.0001

Tabella 1: percentuale di pazienti con test di O'Sullivan positivo, che ricorsero all'approfondimento diagnostico con curva da carico con 100 g di glucosio, suddivise in base ai risultati glicemici ottenuti dopo 60' dall'assunzione di 50 g di glucosio, nei due diversi periodi dell'analisi, prima e dopo l'inserimento del commento.

DISCUSSIONE: I dati in tabella mostrano come il maggior incremento per l'esecuzione di OGTT-100g sia legato ai valori soglia più bassi, dove solo il 50% dei soggetti positivi allo screening proseguiva il percorso diagnostico. Nella classe intermedia non vi è stata variazione significativa, mentre una modesta variazione è rilevata per le classi con alti valori di glucosio. L'ADA ha pubblicato linee guida che raccomandano l'esecuzione dell'approfondimento diagnostico in tutte le gravide con valori di glicemia a 60' ≥ 140 mg/dL. Un abbassamento del cut off a 130 mg/dL permetterebbe di diagnosticare un altro 10% di diabete mellito gestazionale (DMG), indicando come 140 mg/dL sia già un compromesso tra numero di OGTT-100g da eseguire e numero di DMG diagnosticabili. Questi dati dimostrano come un semplice avviso sul referto di laboratorio possa modificare il comportamento dei clinici nelle loro decisioni diagnostiche, permettendo da un lato di incrementare il numero di diagnosi di DMG, e dall'altro di dimostrare l'efficacia dell'intervento clinico nelle attività diagnostiche di laboratorio.

Determinazione della dimetilarginina asimmetrica (ADMA) con derivatizzazione NDA. Messa a punto di un nuovo metodo HPLC.

^aCoppa G., ^bTesta R., ^cMaccaroni I., ^aGambini A., ^aPigini P., ^bMarra M.

^aLaboratorio Analisi, Ospedale Regionale, Ancona, ^bU.O. Diabetologia, Dipartimento Ricerche, INRCA, Ancona, ^cLaboratorio Analisi, Ospedale di Recanati, Recanati (MC).

Scopo del Lavoro

La dimetil-L-arginina asimmetrica (ADMA) è un inibitore competitivo dell'ossido nitrico sintasi. La diminuzione, nel plasma, del rapporto L-arginina/ADMA è stata associata con l'ipercolesterolemia, l'aterosclerosi, l'insufficienza renale cronica e l'ipertensione. Per questa ragione la determinazione plasmatica dell'ADMA è divenuta una importante procedura diagnostica, che richiede metodi rapidi, precisi e accurati. La naftalene-2,3-dicarbossaldeide (NDA) si è dimostrato un eccellente reagente fluorogenico per la derivatizzazione degli aminoacidi dovuto all'intensa fluorescenza e stabilità e dei prodotti ottenuti rispetto ai derivati con OPA. Questo lavoro descrive un nuovo metodo HPLC per la determinazione dell'ADMA in plasma eparinato con derivatizzazione NDA e rilevazione fluorimetrica.

Materiali e Metodi

L'ADMA è estratto, a temperatura ambiente, dal plasma eparinato su colonna a scambio cationico forte (Isolute PRS) previa aggiunta di N^o-Propyl-L-arginine; (N-PLA) come standard interno. L'eluato è portato a secco su corrente d'azoto e derivatizzato con NDA, a temperatura ambiente per 20 minuti, in tampone borato a pH 9.5 in presenza di ioni cianuro. Il campione viene iniettato in un sistema HPLC a fase inversa e separato, in isocratica, utilizzando una colonna Waters Spherisorb S5 P 250x4.0mm e una fase mobile costituita da Sodio Acetato 25 mmol/L, 38% CH₃OH a pH 6.8. Il detector fluorimetrico è settato a $\lambda_{EX}=420$ nm e $\lambda_{EM}=483$ nm.

Risultati

La linearità è risultata nel range 0.03-16 μ M. La precisione within-day è risultata inferiore a 2.15% e la day-to-day inferiore a 2.54%. I recuperi ottenuti da campioni supplementati con standard puro sono maggiori del 99%. I campioni mantenuti a 4°C e protetti dalla luce, sono più stabili di quelli ottenuti con derivatizzante OPA (fluorescenza persa per i derivati NDA ogni 24h 5.9% vs 72% per i derivati OPA).

Discussioni e Conclusioni

Il nostro metodo ha mostrato una buona affidabilità complessiva e i prodotti ottenuti, a parità di sensibilità, sono più stabili rispetto a quelli ottenuti con l'OPA.. E' da sottolineare che con tale metodica è possibile analizzare contemporaneamente sia l'ADMA sia l'isomero simmetrico della dimetil-L-arginina (SDMA) e l'arginina.

Titolo

Confronto di due modalità d'esecuzione del test al lattosio per la diagnosi di deficit di lattasi

Autori

L. Cerutti, C. Fontanella, F. Pavese

Istituzione

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Lodi

Introduzione

Il test al lattosio in uso prevede 2 letture, a digiuno e dopo 60 minuti dall'assunzione. Alcuni pazienti non deficitari di lattasi potrebbero presentare innalzamenti transitori della glicemia prima di tale tempo, ma mostrare valori simili al basale a 60 minuti. Risulterebbero pertanto falsamente positivi. Abbiamo valutato l'andamento nel tempo della glicemia con ulteriori determinazioni a 15 e 30 minuti.

Pazienti e metodi

Nel periodo gennaio – luglio 2002, 47 pazienti si sono presentati presso il nostro centro per il test al lattosio. A tutti sono stati somministrati 50 g di lattosio disciolti in 200 ml d'acqua. La determinazione della glicemia è stata eseguita a 0, 15, 30 e 60 minuti. Ogni singola determinazione è stata classificata come positiva, dubbia o negativa se la glicemia risultava aumentata <20mg/dl rispetto al basale, 20-29 mg/dl e >30 mg/dl rispettivamente. Il test è stato interpretato in due modi: quello tradizionale, considerando solo la glicemia a 60 minuti, e quello alternativo, considerando tutti i valori, e in particolare il test è stato interpretato come

Positivo: tutte le determinazioni positive

Dubbio: almeno una determinazione dubbia e nessuna negativa

Negativo: almeno una determinazione negativa

Sono state ottenute statistiche descrittive, sensibilità, specificità, valore predittivo positivo (VPP) e negativo (VPN) del test tradizionale rispetto a quello alternativo, e il coefficiente di correlazione K.

Risultati

Dei 47 soggetti esaminati, 31 erano femmine, 16 maschi; l'età media era di 41,2 anni (DS 13,0). I test risultati positivi con il metodo alternativo sono stati 26, 12 negativi e 9 dubbi. Non c'erano differenze di sesso ed età tra i tre gruppi. Tra i negativi, 6 sarebbero stati considerati positivi con il metodo tradizionale; tra i 9 dubbi, 7. Usando come standard il test alternativo, la sensibilità del test tradizionale è risultata del 100%, la specificità del 50%, il VPP del 70,3% e il VPN del 100% in questo piccolo campione. Il coefficiente K di correlazione è risultato di 0,63 ($0 < 0,001$).

Discussione

La prevalenza di deficit di lattasi è risultata del 79% con il test tradizionale e del 55% con il test alternativo. Il metodo alternativo ha permesso di escludere il deficit di lattasi in 6 (13%) pazienti, altrimenti considerati positivi. Nel campione esaminato l'esito negativo è risultato utile per i pazienti sia per la diagnosi che per la qualità di vita, evitando un regime dietetico forzato e ingiustificato oltre ad eventuali approfondimenti diagnostici.

1-5-ANDRO-D-GLUCITOLO PLASMATICO, UN INDICE DI INTEGRAZIONE DELLE ESCURSIONI GLICEMICHE NEL DIABETE MELLITO.

L. Malloggi^a, G. Pellegrini^a, R. Filomena^a, A. Lencioni^a, L. Pucci^b, D. Lucchesi^b, R. Miccoli^b, G. Penno^b, A. Marsocci^b, S. Del Prato^b. ^aLaboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche; ^bDipartimento di Endocrinologia e Metabolismo – Università di Pisa e Azienda Ospedaliera Pisana.

Scopo del lavoro

Recenti studi suggeriscono che le escursioni glicemiche, oltre alla glicemia media, rappresentano un importante fattore patogenetico delle complicanze del diabete (1). In particolare, l'iperglicemia post-prandiale sembra essere un fattore di rischio indipendente per le complicanze. Questa ipotesi è basata essenzialmente sulla glicemia 2 ore dopo carico orale di glucosio (2), ritenuta un equivalente della glicemia post-prandiale, mentre poche sono le informazioni sulla glicemia post-prandiale e sulle escursioni glicemiche registrate nella vita reale. Studi di questo tipo sono resi difficili dalla mancanza di un parametro capace di registrare in maniera integrata le fluttuazioni glicemiche.

La relazione tra diverse modalità di espressione della variabilità circadiana della glicemia e l'emoglobina glicata stabile (SHb), labile (LHb) e l'1-5-Anidro-D-glucitolo (1,5-AG) è stata studiata in 20 soggetti diabetici (10 diabetici di Tipo 1, 10 di Tipo 2).

Materiale e Metodi

La LHb (base di Schiff) è un parametro facilmente discriminabile sul tracciato cromatografico che risponde prontamente alle modificazioni glicemiche. L'1,5-AG è un poliolo di derivazione alimentare simile al glucosio, eliminato con le urine come sostanza non metabolizzata e capace di competere con il glucosio per il riassorbimento tubulare. In soggetti normoglicemici, la concentrazione plasmatica è pari a circa 20 µg/ml. La riduzione del livello di 1,5-AG nel plasma del soggetto diabetico è funzione dell'aumentata escrezione urinaria che avviene parallelamente all'aumentata escrezione urinaria del glucosio in presenza di iperglicemia. Sono stati raccolti dati relativi a complessivi 110 giorni-test: ciascun giorno-test prevedeva un profilo glicemico (7-punti) e un successivo prelievo ematico a digiuno per dosaggio di SHb, LHb (HPLC) e 1,5-AG (column-enzyme assay).

Risultati

I tre parametri erano strettamente correlati con la media delle glicemie giornaliere (SHb, $r=0.467$; LHb, $r=0.438$; 1,5-AG, $r=-0.530$; $p<0.0001$), nonché strettamente correlati tra loro. In particolare, 1,5-AG correlava negativamente con LHb ($r=-0.426$, $p<0.0001$) e più significativamente con SHb ($r=-0.702$, $p<0.0001$). Il valore-M di Schlichtkrull (M-value), la fluttuazione glicemica (valore max- valore min, DeltaMM) e la deviazione standard (SD-MG) del profilo glicemico sono stati calcolati quali indici di variabilità intra-giornaliera della glicemia. All'analisi univariata, SHb ($r=0.417$) e LHb ($r=0.470$) erano correlate positivamente e 1,5-AG inversamente ($r=-0.549$) con M-value ($p<0.0001$). I tre parametri correlavano anche con DeltaMM (rispettivamente $r=0.270$, $r=0.472$ e $r=-0.479$; $p<0.005-0.0001$) e con SD-MG (rispettivamente $r=0.268$, $r=0.472$ e $r=-0.479$; $p<0.005-0.0001$). Alla regressione multipla stepwise, solo 1,5-AG era "espressione" di DeltaMM ($r^2=0.187$, $p<0.0001$), 1,5-AG ($r^2=0.251$) e LHb (multipla $r^2=0.291$, $p<0.0001$) erano "espressione" di SD-MG e solo 1,5-AG era "espressione" di M-value ($r^2=0.286$, $p<0.0001$).

Discussione e Conclusioni

Sebbene tutti gli indici integrati di variabilità glicemica (SHb, LHb, 1,5-AG) siano strettamente associati al valore glicemico medio, 1,5-AG meglio degli altri riflette le fluttuazioni glicemiche intervenute nelle 24 ore precedenti e potrebbe quindi rappresentare un utile misura da associare alla determinazione della HbA1c, quale indice integrato delle oscillazioni circadiane della glicemia.

1. Palumbo PJ. *Glycemic control, mealtime glucose excursions, and diabetic complications in type 2 diabetes mellitus*. Mayo Clin Proc 76: 609-618, 2001.
2. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. *Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria*. 354: 617-621, 1999.

CORRELAZIONE TRA LIVELLI DI TRIGLICERIDI MATERNI E PESO ALLA NASCITA IN DONNE CON NORMALE TOLLERANZA GLUCIDICA

E. Pardini^a, G. Pellegrini^a, R. Miccoli^b, L. Volpe^b, C. Lencioni^b, M. Lorenzetti^b, G. Giovannitti^b, M. Calabrese^b, I. Cuccuru^b, I. Batini^a, V. Mainardi^a, M. Salvadorini^a, A. Boldrini^c, S. Del Prato^b, G. Di Cianni^b.

^aLaboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche; ^bDipartimento di Endocrinologia e Metabolismo; ^cUnità Operativa di Neonatologia – Università di Pisa e Azienda Ospedaliera Pisana.

Scopo del lavoro

Le alterazioni del metabolismo glucidico non sono, da sole, sufficienti a spiegare la variabilità del peso alla nascita, che è influenzato anche da fattori materni, sia genetici che metabolico-ormonali. Questi fattori hanno un'importanza maggiore nelle gravidanze fisiologiche rispetto a quelle complicate da diabete gestazionale. Le modificazioni del metabolismo lipidico materno che caratterizzano la seconda metà della gravidanza, così come alcuni determinanti genetici che controllano punti chiave del metabolismo delle lipoproteine, potrebbero svolgere un ruolo importante nel determinare il peso alla nascita. Mentre gli effetti delle alterazioni del metabolismo glucidico sul peso alla nascita sono ben definiti, altrettanto non risulta per le anomalie lipoproteiche. A tale scopo abbiamo valutato la relazione tra peso alla nascita e parametri glucidici e lipidici materni in 180 donne risultate positive al test di screening per il Diabete Gestazionale (GDM).

Metodi

Dati anamnestici e clinici: familiarità, età, indice di massa corporea, tempo e modalità del parto, peso neonatale, ecc. Parametri biochimici: test di screening e curva da carico orale di glucosio, colesterolo totale, LDL e HDL (metodi diretti), trigliceridi. Genotipo dell'apolipoproteina E: analisi di restrizione dopo PCR.

Risultati

La popolazione è stata suddivisa in tre gruppi: Diabete Gestazionale (GDM n. 24; 13%), Ridotta Tolleranza Glucidica (IGT n. 35, 19%) e Normale Tolleranza Glucidica (NGT n. 121, 78%). I tre gruppi erano simili per età (NGT: 32±4, IGT: 33±4 GDM: 32±3 anni), indice di massa corporea (IMC) pregravidico (NGT: 24±4, IGT: 23±3, GDM: 24±5 kg/m²) ed epoca gestazionale (NGT: 28±3, IGT: 27±5, GDM: 28±3 settimana). I valori di colesterolo totale, C-LDL e C-HDL, apolipoproteina A-I e B risultavano comparabili nei tre gruppi, mentre i trigliceridi erano più alti nel GDM (219±69) rispetto a IGT (175±72) e NGT (176±57 mg/dl; ANOVA p<0.01). La distribuzione del genotipo dell'apoE risultava: E2/E3 13%; E3/E3 73%; E3/E4 14%. I trigliceridi non erano influenzati dal genotipo dell'apoE. All'analisi univariata, nelle donne NTG, ma non in quelle con IGT o GDM, che avevano partorito fra la 38^a e la 40^a settimana, il peso neonatale è risultato significativamente (p<0.05) correlato con l'IMC pregravidico (r=0.23), l'incremento ponderale (r=0.24), i valori di trigliceridi (r=0.33) e la glicemia a 120' dell'OGTT (r=0.24). Dopo analisi multivariata aggiustata per le glicemie dell'OGTT, per il peso pregravidico e per l'incremento ponderale, solo i valori di trigliceridi e l'IMC pregravidico risultavano influenzare significativamente il peso alla nascita (p<0,05).

Conclusioni

I dati di questo studio mostrano che le donne affette da GDM hanno valori di trigliceridi più elevati indipendentemente dal genotipo dell'ApoE. In assenza di alterazioni della tolleranza glucidica, il peso pregravidico ed i valori di trigliceridi sono predittori indipendenti del peso alla nascita. Tali risultati suggeriscono che la misurazione dei trigliceridi in gravidanza dovrebbe essere effettuata di routine. Una più attenta caratterizzazione fenotipica della gravidanza, soprattutto in presenza di diabete, potrebbe rappresentare una efficace misura per garantire il benessere materno e fetale.

1. Kitajima M, Oka S, Yasuhi I, Fukuda M, Rii Y, Ishimaru T. Maternal serum triglyceride at 24--32 weeks' gestation and newborn weight in nondiabetic women with positive diabetic screens. *Obstet Gynecol* 97: 776-780, 2001.

INIBIZIONE DEL CONTRO-TRASPORTO SODIO/IDROGENO ERITROCITARIO SOTTO AZIONE DELL'EPICATECHINA

°L. Rossi, °Severini L., °A. Lucchetti, E. Matteucci, *S. I. Rizvi, O. Giampietro, °B. Innocenti

Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa,

*Dept Biochemistry, University of Allahabad, India,

°Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Azienda Ospedaliera Pisana

Scopo del lavoro

L'epicatechina, un flavonoide appartenente alla famiglia delle catechine, sarebbe dotato di attività insulino-simile. Oltre alle proprietà anti-diabetiche, le catechine inibiscono anche la proliferazione cellulare. Poiché il pH citoplasmatico (pHi) ha un ruolo nella proliferazione cellulare ed il controtrasporto Na/H (Na/H exchanger, NHE) è il principale meccanismo di regolazione del pHi, abbiamo studiato in vitro l'effetto della (-)-epicatechina (EC) sull'isoforma NHE1 utilizzando eritrociti umani.

Materiali e metodi

L'attività dell'NHE è stata misurata in 8 volontari sani, 8 diabetici tipo 1 e 9 diabetici tipo 2, dopo incubazione per 30 minuti a 37°C sia con epicatechina 1 mM o insulina 10^{-9} M o solo solvente. Glicemia, glicosuria ed emoglobina glicata rappresentano gli esami standard del pannello ambulatoriale che il Centro per le Malattie Metaboliche e del Ricambio richiede per i pazienti diabetici coinvolti nello studio, oltre ai parametri routinari (glicemia, uricemia, colesterolemia totale e HDL, trigliceridemia, lipoproteina a, creatininemia e clearance, emocromo, transaminasi, protidogramma, fibrinogenemia, fruttosamina) utili nella valutazione della compliance di questi particolari soggetti. Il controtrasporto è stato studiato secondo il metodo Orlov, attraverso la misurazione della velocità di estrusione degli idrogenioni dagli eritrociti acidificati. Successivamente è stata eseguita una lettura in doppio in presenza di DIDS e amiloride.

Risultati

L'attività del trasportatore era elevata in entrambi i gruppi di pazienti diabetici rispetto ai controlli ($p < 0.05$). L'epicatechina provocava una riduzione del 93% dell'attività dell'NHE nei controlli sani, dell'89 e 86% nei diabetici tipo 1 e tipo 2, rispettivamente ($p < 0.001$). L'insulina riduceva del 36% l'attività dell'antiporto solo nei diabetici tipo 2 ($p < 0.05$).

Conclusioni

La marcata inibizione negli eritrociti dell'NHE1, isoforma ubiquitaria del trasportatore di membrana, da parte dell'epicatechina può avere importanti implicazioni. L'inibizione dell'NHE1 potrebbe essere uno dei principali meccanismi alla base dell'azione antiproliferativa delle catechine.

PERCHE' LA CONCENTRAZIONE PLASMATICA DI OMOCISTEINA E' MINORE NEI DIABETICI TIPO 1 PIUTTOSTO CHE NEI CONTROLLI SANI?

Rossi L., Birindelli S., Deri D., Cordoni C., Mugnaini P., Cappuccio A., *Matteucci E.,
*Fagnani F., *Evangelista I., *Giampietro O., Innocenti B.
*Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Azienda Ospedaliera Pisana

Scopo del lavoro

I livelli plasmatici di omocisteina (tHcy) sono considerati un importante fattore di rischio cardiovascolare. Abbiamo dimostrato con un precedente lavoro che la concentrazione plasmatica di tHcy è ridotta nel diabete mellito tipo 1 in assenza di compromissione renale, mentre aumenta con i livelli di creatinemia ed è elevata in presenza di nefropatia diabetica. L'iperfiltrazione glomerulare e/o l'accelerata trans-sulfurazione epatica sono state suggerite contribuire ai ridotti livelli di tHcy del diabete tipo 1 con funzione renale conservata. In questo studio abbiamo investigato la relazione tra tHcy e fattori alimentari, quali l'apporto di vitamina B12 e folati, in soggetti sani di controllo e nelle famiglie di pazienti con diabete mellito tipo 1.

Materiali e metodi

Abbiamo misurato la concentrazione sia di tHcy che di Vitamina B12 e folati in 91 controlli sani (età 44 ± 13 a), 38 diabetici tipo 1 (37 ± 12 a; 19 senza complicanze diabetiche note, 10 retinopatici e 9 nefropatici), ed i parenti non diabetici dei pazienti tipo 1 (44 genitori; 32 fratelli; 50 ± 13 a). I soggetti studiati venivano anche sottoposti a: raccolta dell'anamnesi, esame obiettivo, esecuzione degli esami ematochimici di routine (glicemia, HbA1c, colesterolemia totale e HDL, trigliceridemia, lipoproteina (a), creatinemia e clearance, uricemia, transaminasi, protidogramma, fibrinogenemia, emocromo). I dosaggi di vitamina B12 (vn: 187.0-1059 pg/ml) e folati (vn: 3.5-16.1 ng/ml) sono stati eseguiti su analizzatore AxSYM con metodica MEIA (metodo immunologico a cattura di microparticelle); l'omocisteina (vn 4.45-12.5 $\mu\text{mol/L}$) è stata eseguita su analizzatore IMX con metodica FPIA (metodo immunologico a fluorescenza polarizzata). Apparecchi e reattivi sono forniti dalla ditta Abbott.

Risultati

I livelli plasmatici di tHcy erano minori nei diabetici tipo 1 che in 38 soggetti di controllo simili per età e sesso (8.9 ± 5.8 vs 11.6 ± 7.7 nmol/L, $p < 0.01$); gli stessi pazienti diabetici avevano elevati livelli circolanti di folati (6.2 ± 2.9 vs 4.0 ± 1.7 ng/ml, $p < 0.001$) e normali di vitamina B12 (449 ± 204 vs 415 ± 169 pg/ml). I 76 parenti dei pazienti diabetici tipo 1 presentavano livelli circolanti di tHcy, folati (5.3 ± 2.4 nei parenti vs 4.9 ± 2.1 ng/ml nei controlli) e vitamina B12 (384 ± 205 vs 362 ± 141 pg/ml) simili a quelli di 76 soggetti di controllo di pari età e sesso. Nella popolazione studiata, la concentrazione di tHcy correlava (R multipla 0.5) positivamente con la creatinemia ($p < 0.001$) e negativamente con folati ($p < 0.001$) e vitamina B12 ($p < 0.01$).

Discussione e conclusioni

In base ai dati attuali, possiamo suggerire che uno dei fattori che principalmente contribuiscono a ridurre la concentrazione plasmatica di tHcy nei pazienti con diabete tipo 1, in assenza di nefropatia, è l'apporto dietetico di folati, decisamente superiore a quello della popolazione di controllo.

RELAZIONE TRA TRASPORTO ERITROCITARIO DI ELETTRONI E BODY-MASS INDEX (BMI)

Rossi L., Rosellini A., *Matteucci E., *Fagnani F., *Evangelista I.,
*Giampietro O., Lucchetti A., Innocenti B.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Azienda Ospedaliera Pisana
*Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa

Scopo del lavoro

I complessi I, III, IV della catena respiratoria mitocondriale sono pompe protoniche che convertono energia ossidoriduttiva in lavoro elettrico (traslocazione di protoni), energia potenziale e calore. Sono indicati come electron leak/proton slip le varianti di funzionamento della catena che incidono sull'efficienza metabolica cellulare. Gli elettroni sono trasferiti all'accettore, O_2 , e la produzione di reactive oxygen species (ROS) aumenta quando il gradiente elettrochimico è elevato. Gli eritrociti esportano elettroni attraverso la membrana cellulare, anche se la natura del sistema redox di trasporto rimane ignota. Abbiamo precedentemente osservato che la velocità di trasferimento transmembrana di elettroni dagli eritrociti al ferricianuro extracellulare è selettivamente accelerato nei diabetici tipo 1 con nefropatia ed abbiamo suggerito che ciò dipenda da modificazioni della dinamica del mezzo. Abbiamo ulteriormente investigato il significato clinico di questo sistema riducente transmembrana.

Materiali e metodi

Sono stati analizzati i campioni di 60 controlli sani (età 20-75 a), 30 diabetici tipo 1 ed i loro parenti non diabetici (46 genitori, 60 ± 10 a; 36 fratelli e sorelle, 39 ± 13 a). Nei soggetti studiati, dopo la raccolta dell'anamnesi e l'esame obiettivo, sono stati eseguiti gli esami ematochimici di routine (glicemia, HbA1c, uricemia, colesterolemia totale e HDL, trigliceridemia, lipoproteina a, creatininemia e clearance, emocromo, transaminasi, protidogramma, fibrinogenemia, fruttosamina ed omocisteinemia).

Risultati

Nei 60 soggetti sani di controllo, il BMI correlava con la velocità di riduzione del ferricianuro (vfcy), con la concentrazione plasmatica di malondialdeide (MDA), e con l'età (R multipla 0.5, $p < 0.001$; coefficiente 0.2, 3, 0.1; F parziale 8, 6, e 6, rispettivamente). I soggetti di controllo con $BMI \geq 25$ kg/m² (n=34) presentavano una vfcy maggiore degli altri 26 soggetti di età sovrapponibile (15 ± 5 vs 12 ± 4 μ mol/mL h, $p < 0.01$). La relazione tra BMI e vfcy era assente nelle famiglie dei diabetici tipo 1: 30 pazienti diabetici (10 dei quali nefropatici), 36 fratelli/sorelle e 46 genitori. Nei diabetici tipo 1, come già riportato, la capacità di trasporto di elettroni correlava positivamente con l'escrezione urinaria di albumina e la creatininemia, negativamente con la concentrazione plasmatica di gruppi SH (R multipla 0.6, $p < 0.01$). Al contrario, nei parenti non diabetici la vfcy mostrava un'associazione positiva solo con i livelli di MDA della membrana eritrocitaria (R 0.2, $p < 0.05$, F parziale 4).

Discussione e conclusioni

In base a questi dati, suggeriamo che il trasferimento non-elettrogenico di elettroni catalizzato dalla ferricianuro-reduttasi di membrana sia espressione indiretta dell'efficienza delle pompe protoniche. Mentre nella popolazione diabetica tale trasferimento di elettroni può essere influenzato da modificazioni irreversibili a carico delle strutture proteiche o dal riorientamento delle molecole del solvente acquoso, nei parenti non diabetici dei diabetici tipo 1 sembra prevalere la respirazione inefficiente (uncoupled respiration), a sua volta associata con evidenza di danno ossidativo.

ALBUMINURIA NON SOLO MARKER DI NEFROPATIA: STUDIO DI UNA POPOLAZIONE DI DIABETICI DI TIPO 2

M.Floreati¹, A.Casadei², A.Fanolla³, G.Cosio¹, M.Marchesi²

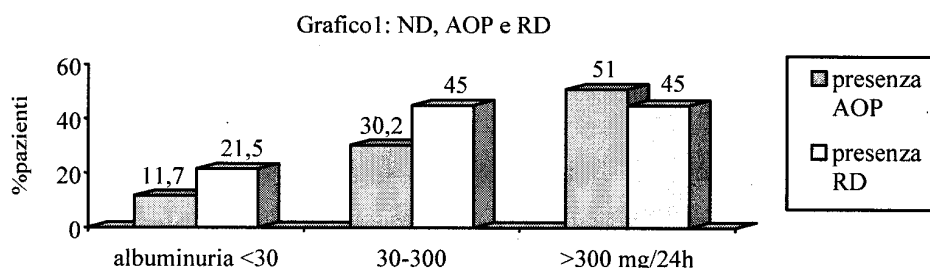
¹Laboratorio di Biochimica Clinica, ²Reparto Medicina Prima, Azienda Sanitaria di Bolzano, ³Osservatorio Epidemiologico, Provincia Autonoma di Bolzano

INTRODUZIONE. Scopo del lavoro è stato quello di studiare una popolazione di pazienti diabetici non insulino-dipendenti (NIDDM), valutare l'importanza del dosaggio dell'albuminuria non solo come marker di nefropatia (ND), ma come indice di compromissione vascolare generalizzata.

MATERIALI E METODI. La popolazione costituita da 141 pazienti NIDDM è stata divisa in 3 gruppi rappresentanti gli stadi di progressione della ND: primo gruppo (n=51) con albuminuria inferiore a 30 mg/24h, secondo gruppo (n=43) con albuminuria compresa tra 30 e 300 mg/24h e terzo gruppo (n=47) con albuminuria superiore a 300 mg/24h. A tutti i pazienti è stata eseguita una indagine Doppler agli arti inferiori per valutare la presenza di arteriopatia (AOP), una fluorangiografia dei vasi retinici per studiare l'eventuale retinopatia (RD) e i seguenti dosaggi laboratoristici: glicemia, creatinina (SynchronCX9, Beckman) e albuminuria (BNII, Dade-Behring).

RISULTATI. Nella nostra popolazione di pazienti diabetici abbiamo studiato l'incidenza della AOP e abbiamo riscontrato che l'11.7% dei pazienti del primo gruppo, il 30.2% del secondo e il 51.0% del terzo presentano una arteriopatia periferica.. Tale distribuzione, analizzata col test Chi-quadro di Pearson, si rivela statisticamente significativa (p=0.000). Per quanto riguarda l'incidenza della RD abbiamo osservato che nel 21.5% dei pazienti 1° gruppo, nel 45% del 2° e del 3° gruppo si osserva la presenza di una RD (p=0.007) (graf.1).

La percentuale di pazienti che non presentano né AOP né RD risulta del 76.4% nel primo gruppo e scende al 44.2% nel gruppo 2, e al 31.9% nel gruppo 3.



CONCLUSIONI. Dai nostri dati risulta che l'incidenza di AOP e RD è più elevata nei pazienti con microalbuminuria e macroalbuminuria rispetto a quelli senza segni di nefropatia e quindi che le complicanze croniche del diabete (retinopatia, nefropatia e arteriopatia) tendono a presentarsi associate negli stessi pazienti. Queste considerazioni hanno portato ad una ulteriore valutazione del dosaggio dell'albuminuria che nel paziente diabetico risulta non solo marker di nefropatia ma di compromissione vascolare generalizzata.(1).

BIBLIOGRAFIA. 1) Valmadrid CT, Klein R, Moss SE, Klein BE. *The risk of cardiovascular disease mortality associated with microalbuminuria and gross proteinuria in persons with older-onset diabetes mellitus.* Arch Intern Med 2000 Apr24;160(8):1093-100

OSSIDAZIONE DEI GRASSI ASSUNTI CON LA DIETA ED ETA'

L. Bissoli, *B. Caruso, G. Carretta, *M. Filippini, P. Pagliari, G. Mazzali, A.R Maruotti, M. Zamboni, P. Rizzotti, O. Bosello

Cattedra di Geriatria e Gerontologia, Università di Verona,

*Laboratorio Analisi Chimiche ed Ematologiche, Azienda Ospedaliera di Verona

L'invecchiamento si associa a modificazioni della composizione corporea: riduzione della massa magra e incremento della massa grassa. Vi sono segnalazioni che con l'avanzare dell'età si modifichi anche l'ossidazione dei grassi.

Scopo del lavoro

Scopo del nostro lavoro è stato quello di evidenziare la componente esogena della ossidazione dei grassi, utilizzando un marcatore non radioattivo del carbonio (^{13}C) aggiunto ad un pasto e dosato nell'aria espirata.

Materiali e metodi

Sono stati studiati 8 soggetti anziani sani e 8 soggetti giovani sani, entrambi di sesso maschile e normopeso. Per lo studio dell'ossidazione dei grassi totali è stata utilizzata la calorimetria indiretta eseguita, a intervalli regolari, per le nove ore successive all'assunzione di un pasto arricchito con una miscela di acidi grassi marcati con ^{13}C . A intervalli orari sono stati raccolti i campioni di aria espirata per il dosaggio del ^{13}C che è stato ottenuto con gas cromatografia (espresso come $\Delta^{13}\text{C}$ (per mille)).

Risultati

Breath ^{13}C	anziani	media \pm DS	giovani	media \pm DS	p
1 h dal pasto	4,49	2,42	3,93	1,01	ns
2 h dal pasto	7,68	2,39	6,74	2,55	ns
3 h dal pasto	11,32	3,83	9,39	2,76	ns
4 h dal pasto	14,98	3,62	12,60	3,43	ns
5 h dal pasto	17,92	2,51	16,22	4,28	ns
6 h dal pasto	19,67	3,71	18,03	3,93	ns
7 h dal pasto	19,12	3,39	19,04	2,75	ns
8 h dal pasto	18,22	4,00	18,29	2,32	ns
9 h dal pasto	17,07	4,35	17,98	2,48	ns

Discussione e Conclusioni

I nostri dati preliminari evidenziano una curva di arricchimento in ^{13}C dell'aria espirata, dopo pasto arricchito con l'isotopo pesante del carbonio, non significativamente diversa negli anziani e nei giovani. Il completamento dei risultati con il calcolo dell'ossidazione dei grassi totali e della ossidazione quantitativa dei grassi esogeni, sarà necessaria per avvalorare l'ipotesi iniziale.

IPECOLERSTEROLEMIE E ALTRI FATTORI DI RISCHIOCARDIOVASCOLARE, APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE NEL CONTROLLO DEL DONATORE PERIODICO.

*Dominijanni A., Galiano F., Nistico 'A. ,Tallerico F. *, Abenavoli F °, Puzzonio P., Gulletta E °.*

Azienda Ospedaliera Pugliese Ciaccio Catanzaro Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale,* Divisione Medicina Interna, ° Cattedra di Patologia Clinica Università degli Studi Magna Graecia di Catanzaro.

Scopo del lavoro

Nell'ambito delle responsabilità che il Servizio di medicina trasfusionale ha nei confronti del buon uso del sangue sicuramente una importanza rilevante spetta alla salute del donatore, il quale, assicurando l'approvvigionamento di materia prima (sangue e/emocomponenti di origine umana), rappresenta un bene prezioso e limitato. Tali premesse hanno fatto nascere l'idea di realizzare un progetto di prevenzione delle malattie cardiovascolari nei donatori. Nell'esaminare la presenza di fattori di rischio modificabili nella nostra popolazione di donatori abbiamo rilevato che l'ipercolesterolemia è presente in una ampia percentuale di casi, non è inquadrata dal punto di vista nosografico, non è trattata. Abbiamo voluto verificare in una popolazione ritenuta sana la valenza del problema ipercolesterolemia, l'eventuale associazione con altri fattori di rischio di CI, la presenza di complicanze cardiovascolari e la valutazione della percentuale di rischio globale.

Materiali e Metodi

Gli obiettivi sono :-modificare i livelli dei fattori di rischio; -identificare e trattare i soggetti ad alto rischio ; - monitorare l'andamento degli eventuali episodi cerebro e cardiovascolari. I dati acquisiti presso il nostro centro donatori : pressione arteriosa, peso, altezza, abitudine al fumo, familiarità per malattie cardiovascolari e consumo di farmaci ,determinazione del colesterolo totale, glicemia e trigliceridi. I soggetti ad alto rischio sono stati identificati sulla base della presenza di almeno tre dei fattori riportati in Tabella A e sono stati avviati all'ambulatorio di prevenzione cardiovascolare del nostro Ospedale per una valutazione clinica e strumentale al fine di identificare l'eventuale presenza di malattia cardiovascolare in fase asintomatica. Alla luce dei dati vengono indicate le modalità per i successivi controlli e suggerimenti terapeutici .

Tab. A

<u>FATTORI DI RISCHIO</u>	SOMMA:
UOMINI =>45 anni	+1
DONNE =>55 anni o menopausa prematura	+1
FAMILIARITÀ PER CARDIOPATIA ISCHEMICA	+1
FUMO	+1
IPERTENSIONE (=>140/90 mmHg o in terapia antipertensiva)	+1
DIABETE MELLITO	+1
COLESTEROLO HDL<35 mg/dL	+1
COLESTEROLO HDL =>60mg/dL	-1

Conclusioni

Il goal da raggiungere per considerare efficace il trattamento farmacologico è colesterolo totale < 200 mg/dl LDL < 115 mg/dl Trigliceridi < 200 mg/dl. Follow-up ogni due tre mesi fino al raggiungimento del goal terapeutico successivamente ogni sei -otto mesi. Le ultime linee-guida del NCEP e del *Joint European Societes Recommendations*, enfatizzano entrambe l'importanza di strategie sanitarie comprendenti la prevenzione di tutti i fattori di rischio modificabili (fumo, dislipidemie, ipertensione, sedentarietà, dieta, sovrappeso, obesità/diabete mellito). Entrambi i rapporti sottolineano come una dieta appropriata (riduzione dell'assunzione di grassi saturi e di zuccheri semplici), assuma un'estrema importanza nella prevenzione primaria della CHD, dando grande enfasi alla prevenzione del sovrappeso, inoltre sono fortemente raccomandati sia lo svolgimento di una adeguata attività fisica in tutte le età che il coinvolgimento attivo di enti governativi e delle società mediche nella lotta al fumo. Nei successivi anni è previsto il coinvolgimento dei medici di base per proseguire la valutazione dei fattori di rischio nella popolazione target, individuando così anche nelle strutture trasfusionali un primo livello di prevenzione e controllo su un ampio segmento della popolazione (18-65 aa.)